

MINYAK ATSIRI HASIL DESTILASI EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH (*Piper betle* L.) DARI BEBERAPA DAERAH DI YOGYAKARTA DAN AKTIVITAS ANTIJAMUR TERHADAP *Candida albicans*

ANTI-FUNGAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OIL DISTILLED FROM ETHANOL EXTRACT OF *Piper betle* L. LEAVES COLLECTED FROM SEVERAL REGION IN YOGYAKARTA, AGAINST *Candida albicans*

Triana Hertiani dan Indah Purwantini
Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian uji daya antijamur minyak atsiri hasil destilasi ekstrak etanol daun sirih yang diperoleh dari beberapa daerah di DIY yaitu dari Kaliurang, Kulonprogo, dan Gunung Kidul terhadap *Candida albicans* dan profil kromatografi gasnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh proses produksi ekstrak dan perbedaan daerah asal bahan baku terhadap daya antikandida dan profil kromatografi minyak atsiri sirih (*Piper betle* L.)

Minyak atsiri yang dipakai pada penelitian ini diperoleh dari hasil destilasi Stahl ekstrak etanol 95% daun kering sirih. Penelitian uji daya anti-kandida dilakukan dengan metode difusi agar Saboroud. Terlihat bahwa minyak atsiri dari Kulonprogo menunjukkan penghambatan yang paling besar dibandingkan minyak atsiri dari daerah lainnya.

Minyak atsiri yang diperoleh diperiksa profil kromatografi gasnya dan diketahui bahwa terdapat perbedaan pada profil kromatografi minyak atsiri dari masing-masing daerah dan dengan minyak atsiri dan tumbuhan segar. Perbedaan terletak pada jenis dan komposisi senyawa kandungan. Perbedaan komponen minyak atsiri daun segar dan hasil ekstraksi menunjukkan bahwa proses pembuatan ekstrak telah menurunkan potensi minyak atsiri ekstrak etanol daun sirih sebagai anti fungi.

Kata kunci: ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.), daya anti-kandida, profil kromatografi gas

ABSTRACT

Anti-fungal activity of essential oil distilled from extracts of *Piper betle* leaves against *Candida albicans* and the gas chromatography profiles has been studied. The leaves were collected from Kaliurang, Kulonprogo, and Gunung Kidul. This research was aimed to find out the influences of extract production process and the difference of starting material source regions to anti-fungi activities against *Candida albicans*. The gas chromatographic profile of essential oils distilled from sirih (*Piper betle* L.) extracts were also observed.

The essential oils used in this research was collected from ethanol 95% extract of sirih dried leaves by distillation method. Anti-fungi activity was assayed using Sabaroud agar-diffusion method. The results showed that the essential oil from Kulonprogo has the highest activity.

The gas chromatographic profile of each essential oil had been examined individually and the results showed that the composition of substances containing in each extracts were different. The study comparison

of essential oils composition of *Piper betle* L. fresh herbs showed that the extraction method reduced the anti-candida potency of *Piper betle* L. leaves extract. The habitat of the starting materials influences the gas chromatographic profile of the essential oil.

Key words: *Piper betle* Leaves Extract; anti-fungi, chromatographic profiles

PENDAHULUAN

Daun sirih (*Piper betle* L.) merupakan tanaman yang banyak dijumpai di sekitar kita dan pada komposisi jamu tradisional. Komponen kimia sirih adalah minyak atsiri, seskuiterpen, triterpen, terpenoid, sitosterol, neolignan, krotepoksida (Sudarsono, dkk., 1996). Simplisia daun sirih biasanya dipergunakan sebagai salah satu komponen utama dalam obat keputihan. Kita ketahui bahwa salah satu penyebab keputihan adalah infeksi oleh *Candida albicans*. Aktivitas anti-kandida diduga berasal dari kandungan minyak atsiri daun sirih yaitu isoeugenol dan limonena sebagai kandidistatik, β -pinena, kariofilena sebagai kandidisida (Duke, 2002).

Kandungan metabolit sekunder dalam tanaman sangat dipengaruhi oleh banyak faktor antara lain daerah geografis asal, jenis tanah, cara panen dll. Selain itu dalam pengolahan bahan baku menjadi produk jadi hasil ekstraksi banyak hal yang dapat mempengaruhi kandungan aktif dari produk. Terlebih lagi komponen aktif dari ekstrak daun sirih adalah minyak atsiri, kita ketahui minyak atsiri sangat mudah menguap sedangkan proses produksi ekstrak membutuhkan pemanasan dan penguapan.

Sebagai salah satu indikator dalam standarisasi ekstrak perlu dilakukan pengujian parameter spesifik ekstrak dalam hal ini ekstrak daun sirih. Pada penelitian ini dipilih ekstraksi dengan etanol 95%. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa kadar minyak atsiri ekstrak etanol daun sirih kering yang diperoleh dari daerah Kaliurang, Kulonprogo dan Gunungkidul adalah berturut-turut sebagai berikut : 8,3% v/b; 6% v/b; dan 1,5% v/b. Perbedaan kadar minyak atsiri pada masing-masing daerah tersebut adalah signifikan secara statistik. Selain itu secara organoleptis terlihat adanya perbedaan dari masing-masing minyak atsiri (Purwantini dkk., 2001). Hal tersebut mendorong dilakukannya penelitian lanjutan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan pada aktivitas masing-masing minyak atsiri tersebut terhadap *Candida albicans* dan apakah komposisi masing-masing minyak atsiri tersebut juga berbeda.

Pada penelitian ini akan diujikan daya anti-jamur ekstrak terhadap *Candida albicans* sekaligus akan diperiksa profil kromatografi gas-spektra massa dari minyak atsiri. Dengan mengetahui parameter tersebut diharapkan dapat diketahui pengaruh perbedaan daerah asal bahan baku terhadap kualitas dari produk obat tradisional dalam hal ini ekstrak etanol daun sirih.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan

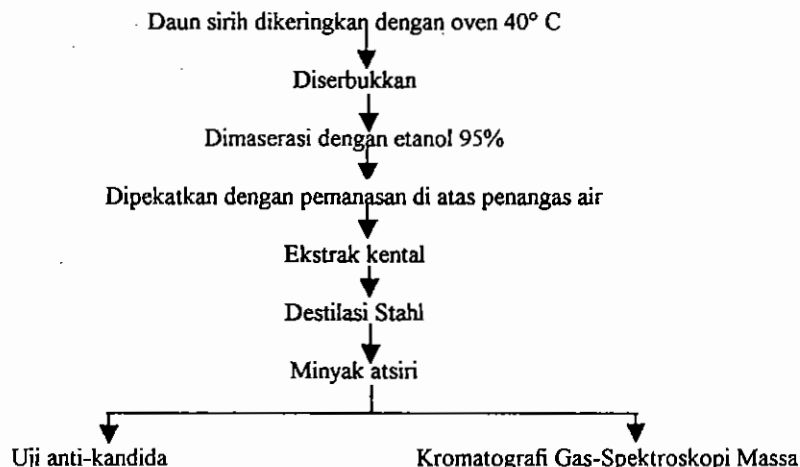
Daun sirih segar (*Piper betle* L.) diperoleh dari beberapa daerah di Kulonprogo, Gunung Kidul dan Kaliurang pada bulan Agustus-September 2000. Determinasi dilakukan di Laboratorium Farmakognosi, Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM. Mikroba uji: *Candida albicans* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Farmasi UGM. Bahan kimia: etanol teknis, media Saboroud, silika gel GF 254 (E Merck®).

Alat

Destilasi Stahl, alat KLT, Kromatografi gas-spektroskopi massa Shimadzu QP-5000, kondisi operasi : jenis pengionan Electron Impact, jenis kolom DBI panjang 30 m, suhu kolom 60° C (5 menit) s/d 250° C, gas pembawa helium, mode injektor 1:80 suhu 250° C suhu detektor 270° C.

Cara kerja

Cara kerja secara garis besar seperti diterangkan pada gambar 1 sebagai berikut:



Gambar 1. Bagan cara kerja

Penentuan aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*

Pengujian aktivitas anti-jamur dilakukan secara steril dengan metode kertas cakram (difusi padat). Suspensi *Candida albicans* diusap secara merata pada permukaan agar Sabouraud dan dibiarkan selama kurang lebih 3 - 5 menit agar suspensi terserap merata dalam media. Selanjutnya cakram berdiameter 6 mm diletakkan pada permukaan agar yang telah ditanami jamur uji. Cakram tersebut ditetesi minyak atsiri yang akan diujikan. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Setelah 24 jam dilakukan pengukuran diameter hambatan yang terjadi dengan menggunakan jangka sorong.

Analisis data

Data berupa diameter hambatan pertumbuhan *Candida albicans* dalam mm dianalisis secara statistik menggunakan metode t-test pada taraf kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi menggunakan etanol 95% dengan metode maserasi. Pertimbangan pemilihan metode tersebut karena maserasi merupakan metode sederhana, mudah dilakukan dan cukup efektif untuk menyari senyawa aktif dari daun kering. Sedangkan pemilihan etanol 95% diharapkan dapat menyari sebanyak mungkin minyak atsiri dari daun sirih karena minyak atsiri relatif non polar. Etanol merupakan larutan penyari yang lazim dipergunakan dalam produksi ekstrak obat tradisional karena harganya relatif murah, mudah dalam penanganannya dan merupakan penyari yang efektif.

Minyak atsiri yang diperoleh berwarna kuning keemasan dan berbau aromatis khas. Hasil uji mikrobiologi menunjukkan data sebagai berikut :

Tabel 1. Data hasil uji potensi anti-kandida minyak atsiri ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L.)

Replikasi	Diameter Hambatan (mm)		
	m.a. GK	m.a. KP	m.a. KU
1.	15,24	22,34	18,20
2.	15,68	20,60	18,80
3.	14,32	21,20	16,30
4.	17,00	22,00	18,28
5.	16,60	16,30	18,00
Rata-rata	15,77	20,49	17,92
SD	1,071	2,437	0,950

Keterangan : m.a.: minyak atsiri; GK: Gunung Kidul; KP: Kulon Progo; KU: Kaliurang

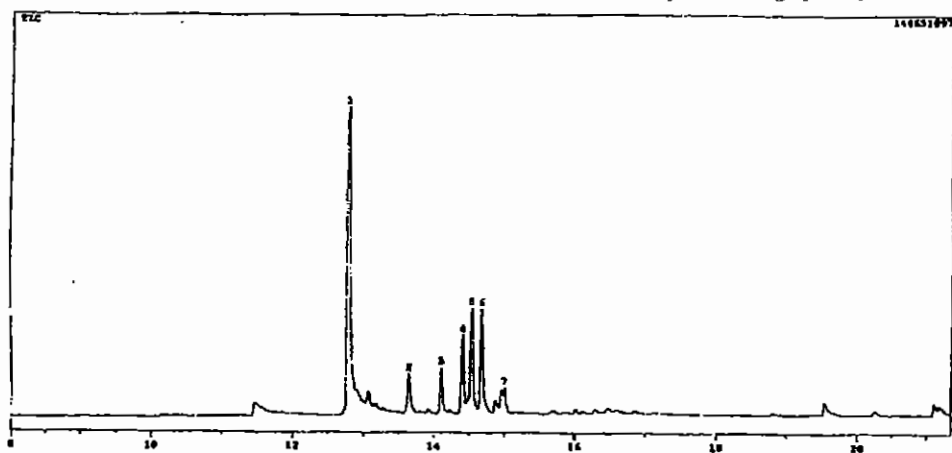
Analisis statistik menggunakan t-test dengan taraf kepercayaan 95% menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara potensi anti-kandida minyak atsiri dari Kulon Progo dengan minyak atsiri dari Gunung Kidul dan Kaliurang. Hanya saja tidak terdapat perbedaan bermakna antara potensi anti-kandida minyak atsiri dari Gunung Kidul dan Kaliurang.

Data tersebut menunjukkan bahwa minyak atsiri dari Kulonprogo memiliki aktivitas yang paling tinggi sebagai anti-kandida, walaupun seperti dikemukakan oleh Purwantini dkk (2001) rendemen minyak atsiri terbesar berturut turut dan yang paling tinggi adalah Kaliurang, Kulonprogo dan Gunung Kidul. Untuk dapat mengetahui kemungkinan penyebab perbedaan tersebut adalah dengan mendeteksi kandungan senyawa kandungan minyak atsiri hasil ekstraksi. Data profil kromatografi gas minyak atsiri daun sirih (gambar 2 - 4 dan tabel II)

Tabel II. Data profil kromatografi gas-spektroskopi massa minyak atsiri daun sirih (*Piper betle* L.)

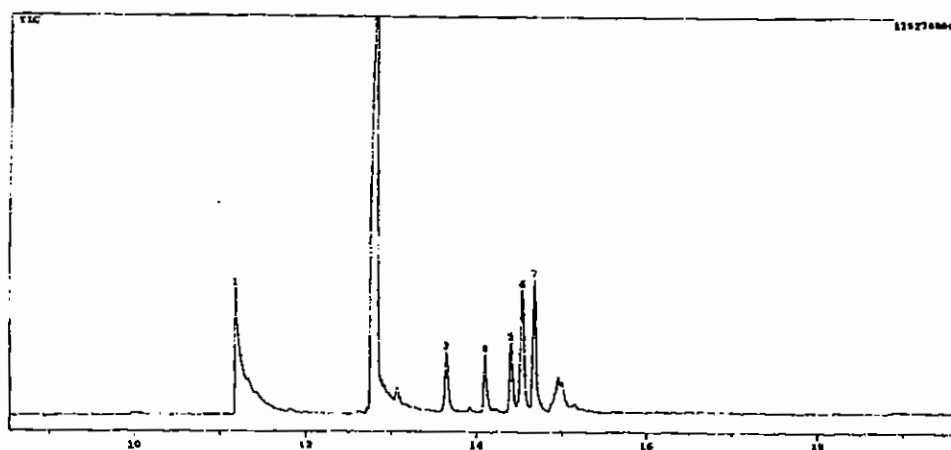
m.a Kulon Progo			m.a Kaliurang			m.a Gunung Kidul			BM	Rumus Molekul
Np.	Rt	% total	Np.	Rt	% total	Np.	Rt	% total		
1.	11,292	19,41	1.	11,180	12,91		Tdt	Tdt	176	Tidak teridentifikasi
2.	12,808	52,09	2.	12,825	53,75	1.	12,799	46,76	164	Isoeugenol
3.	13,658	15,19	3.	13,648	10,87	2.	13,647	11,51	204	Kariofilenia
4.	14,121	1,80	4.	14,102	2,86	3.	14,104	5,01	204	α -kariofilena
5.	14,416	2,20	5.	14,408	3,92	4.	14,411	7,83	204	Kopaena α -kariofilena
6.	14,543	5,08	6.	15,538	7,95	5.	14,538	12,02	204	4aR-(4 α , 7 α , 8 β)-dehidro-4a-metil-1-metilena-7-(1-metileni)naftalena
7.	14,686	4,23	7.	14,678	7,74	6.	14,678	10,87	204	Tdk teridentifikasi
	Tdt	Tdt		Tdt	Tdt	7.	15,004	6,01	204	Kopaena α -kubebena

Keterangan : Np: nomor puncak; m.a.: minyak atsiri; Rt: Retention Time (waktu retensi); BM: bobot molekul



Gambar 2. Profil kromatogram hasil deteksi minyak atsiri ekstrak etanol sirih dari Gunung Kidul dengan kromatografi gas

Keterangan: absis = waktu retensi; ordinat = tinggi puncak

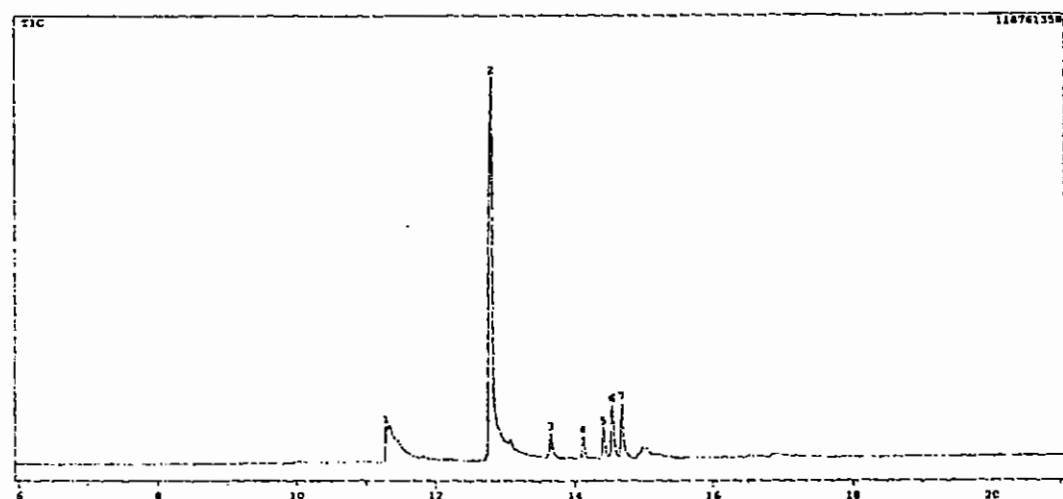


Gambar 3. Profil kromatogram hasil deteksi minyak atsiri ekstrak etanol sirih dari Kaliurang dengan kromatografi gas

Keterangan: absis = waktu retensi; ordinat = tinggi puncak

Kandungan minyak atsiri bagian atas tumbuhan segar adalah 0,11% dengan komposisi α -pinena, kamfena, β -pinena, limonena, DL-kamfor, borneol, safrol, kopaena, isoeugenol, (Z)-(+)-4hidroksi-3 metil-2-(2,4-pentadienil)-2-siklopenten-1-on, kariofilena, 1aR(1 α ,7 α ,7 α ,7 β)-1a,2,3,5,6,7,7a-oktahidro-1,1,7,7a-tetrametil-1H siklopropana naftalena, α -kariofilena, α -kubebena, 4aR-(4 α ,7 α ,8 α)-dekahidro-4a-metil-1-metilena-7-(1-metiletenil)naftalena, (1S,cis)-1,2,3,5,6,8a-heksahidro-4,7-dimetil-1-1(1-metiletil)naftalena, patchoulena, dodekanal, dan α -bisabolol (Agusta, 2000).

Terlihat bahwa komponen kimia yang terdeteksi dari minyak atsiri hasil destilasi ekstrak hanya 6 macam sedangkan yang terdeteksi dari minyak atsiri tumbuhan segar adalah 20 macam. Hal tersebut kemungkinan karena perbedaan sensitivitas dari alat dan perbedaan sistem kromatografi yang dipergunakan. Tetapi kandungan kimia dari minyak atsiri ekstrak relatif sama dengan dari tumbuhan segarnya, hanya komposisinya yang berbeda. Sedangkan kandungan masing-masing minyak atsiri dari daerah asal bahan baku yang berbeda, relatif sama baik jumlah maupun macamnya tetapi terlihat sedikit perbedaan pada komposisinya terutama minyak atsiri dari Gunung Kidul.



Gambar 4. Profil kromatogram hasil deteksi minyak atsiri ekstrak etanol sirih dari Kulonprogo dengan kromatografi gas

Keterangan: absis = waktu retensi; ordinat = tinggi puncak

Hal tersebut menjelaskan rendahnya potensi anti-kandida minyak atsiri tersebut dibandingkan minyak atsiri daerah yang lain. Terlihat bahwa kandungan isoeugenol suatu senyawa candidistatik minyak atsiri Gunung Kidul jauh lebih rendah dari dua daerah lainnya. Perbedaan lainnya yaitu tidak terdeteksinya senyawa pertama (Rt 11 - 12; BM 176 atau 134) pada minyak atsiri gunung kidul dan terdeteksinya puncak pada sekitar Rt 14, bobot relatif senyawa dengan BM 204 sebesar 6,01% yang diprediksi merupakan kopaena atau kubenena kemungkinan tidak memberikan kontribusi terhadap daya anti-kandida minyak atsiri.

Pada minyak atsiri dari tumbuhan segar, kariofilena merupakan komponen terbesar (bobot relatif 31,05%) (Augusta, 2000) sedangkan pada minyak atsiri yang diperoleh dari destilasi ekstrak etanol daun, komponen terbesar adalah isoeugenol (bobot relatif > 45%).

Jika dibandingkan dengan aktivitas biologisnya, kariofilena merupakan senyawa yang memegang peranan penting pada aktivitas anti-kandidanya. Aktivitas kariofilena adalah sebagai fungisida dan candidisida, sedangkan isoeugenol berefek fungistatik dan candidistatik (Duke, 2002). Pada minyak atsiri dari ekstrak etanol daun sirih, bobot relatif kandungan kariofilenanya hanya 10,87% - 15,19%, sedangkan bobot relatif kandungan kariofilena minyak atsiri dari tumbuhan segar adalah 31,05%. Selain itu β -pinena yang berefek candidisida dan limonena yang berefek fungistat pada tumbuhan segar sebesar 3,14% dan 1,99%, sedangkan dalam ekstrak tidak terdeteksi.

Komponen utama lainnya dalam minyak atsiri hasil destilasi ekstrak etanol adalah kariofilena, kopaena, kubenena, 4aR-(4 α , 7 α , 8 β)-dekahidro-4a-metil-1-metilena-7-(1-metileten)naftalena, dan α -kariofilena. Sedangkan komponen utama dari minyak atsiri tanaman segar selain kariofilena adalah α -kubenena, isoeugenol, α -bisabolol dan pathoulena. Terdapat dua senyawa yang tidak teridentifikasi dari minyak atsiri ekstrak dengan BM 176/134 dan 204 dan satu senyawa yang tidak teridentifikasi pada minyak atsiri tanaman segar. Senyawa dengan BM 204 tersebut kemungkinan adalah seskuioterpena, senyawa dengan BM 176 kemungkinannya adalah 4-alil fenol sedangkan senyawa dengan BM 134 kemungkinan adalah senyawa fenol. Penambahan senyawa yang tidak teridentifikasi tersebut kemungkinan merupakan senyawa artefak yang terjadi sebagai akibat proses produksi terutama diakibatkan oleh panas. Hal tersebut bisa dilihat dari jenis senyawa yang hilang terutama merupakan monoterpen yang mudah menguap.

Dengan demikian dapat diprediksi bahwa pembuatan ekstrak dengan metode maserasi etanol 95% yang diikuti pemekatan dengan pemanasan menyebabkan penurunan aktivitas anti-kandida dikarenakan

perubahan pada komponen-komponen kimia penyusun minyak atsiri terutama hilangnya senyawa aktif yang bertanggungjawab terhadap aktivitas tersebut.

KESIMPULAN

Dari penelitian di atas dapat disimpulkan bahwa proses pembuatan ekstrak mulai dari pengeringan sampai dengan pemekatan ekstrak telah menyebabkan hilangnya sebagian besar komponen minyak atsiri daun sirih yang bertanggungjawab terhadap aktivitas anti-kandidanya. Selain itu dari penelitian ini dapat ditunjukkan bahwa daerah asal bahan baku menentukan kualitas ekstrak yang dihasilkan dalam hal ini adalah pada komposisi kandungan kimia minyak atsiri dan daya anti-kandida ekstrak tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Agusta, A., 2000, Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia, ITB, Bandung
- Duke, J.A., 2002, *Phytochemical and Ethnobotanical Databases, Piper betle L.*, <http://www.ars-grin.gov/duke/farmacy>
- Purwantini, I., Hertiani, T., dan Pramono, S., 2001, Standardisasi Ekstrak Etanol Daun *Piper betle L.*, *Makalah*, Seminar Kelompok Kerja Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XX, Yogyakarta.
- Sudarsono, Pudjoarinto, A., Gunawan, D., Wahyuono, S., Donatus, I.A., Dradjat, M., Wibowo, S., dan Ngatijan, 1996, Tumbuhan Obat, PPOT-UGM, Yogyakarta.